La Pediatria - **Rivista quindicinale d'igiene e di medicina dell'infanzia**
diretta da R. JEMMA - Estratto dal vol. 32, fasc. 15, 1924

ISTITUTO DI CLINICA PEDIATRICA DELLA R. UNIVERSITÀ DI ROMA
DIRETTO DAL PROF. G. CARONIA

Caratteri morfologici e culturali del germe del morbillo

della

Dott.ssa M. B. SINDONI
Aiuto

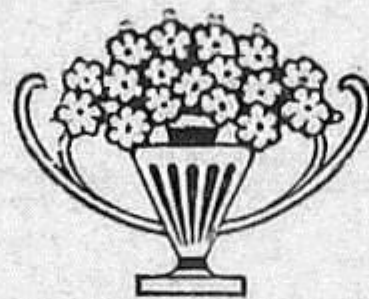
NAPOLI
Stab. Tip. "LA NUOVISSIMA"
Portamedina alla Pignasecca, 44
1924

La Pediatria - Rivista quindicinale d'igiene e di medicina dell'infanzia
diretta da R. JEMMA - Estratto dal vol. 32, fasc. 15, 1924

ISTITUTO DI CLINICA PEDIATRICA DELLA R. UNIVERSITÀ DI ROMA
DIRETTO DAL PROF. G. CARONIA

Caratteri morfologici e culturali del germe del morbillo

della

Dott.ssa M. B. SINDONI
Aiuto

NAPOLI
Stab. Tip. "LA NUOVISSIMA,,
Portamedina alla Pignasecca, 44
1924

Nell' agosto del 1923 Caronia (1) pubblicava i risultati di ricerche eseguite per molti anni su ammalati di morbillo. Egli riusciva ad isolare dal sangue, dal muco naso-faringeo, dalle urine, dal liquido cefalo-rachidiano, un germe speciale a forma di piccolo cocco, a volte isolato, a volte accoppiato, gram-negativo e coltivabile solo in speciali terreni catalizzatori, in anaerobiosi.

Tale germe iniettato a conigli giovani per via endovenosa provoca al 10°-14° giorno dall'iniezione una forma morbosa analoga a quella provocata dall' iniezione di sangue di morbillosi in atto.

Culture attenuate di questo germe, iniettate per via intramuscolare a bambini sani che mai avevano avuto il morbillo e messi in contatto con morbillosi, preservano dal contagio.

Culture vive ricche di germi iniettate per via intramuscolare a bambini che mai avevano sofferto la malattia, provocano al 13° giorno una forma tipica di morbillo caratterizzata da prodromi a carico delle vie aeree superiori, febbre alta, eruzione morbillosa tipica diffusa a tutto il corpo e durata di 4-5 giorni, desquamazione furfuracea.

D' allora abbiamo sempre continuato nella nostra Clinica le ricerche su tutti i morbillosi venuti alla nostra osservazione con risultati costanti, e abbiamo così potuto acquistare una più precisa conoscenza del germe di Caronia, onde non credo priva d'interesse una più dettagliata descrizione di esso.

---

(1) Caronia. Ricerche sull'etiologia del morbillo. La Pediatria, 16, 1923. La Presse Médicale, oct. 1923. Deutsch. med. Woch., 8 e 22, 1924.

Distinguo le ricerche in morfologiche e culturali, dando la precedenza a quelle culturali, poichè da esse si è iniziata la conoscenza del germe.

Ricerche culturali

Sono state eseguite nel sangue, nel midollo osseo, nell'essudato naso-faringeo, nel liquido cefalo-rachidiano, nelle urine, nelle squame, nelle macchie di Koplik, nel secreto congiuntivale.

Sangue e midollo osseo. I risultati dell'emocultura sono differenti secondo il periodo della malattia. Nel periodo *prodromico* si ha sviluppo, non in tutti i casi, dopo 6–7 giorni dall'innesto; nel periodo *eruttivo* dopo 24–48 ore, all'inizio del periodo *desquamativo* come nella *convalescenza* avanzata i risultati sono sempre negativi. Risultati analoghi si hanno con l'innesto di midollo osseo.

Secreto naso-faringeo. La tecnica per questa ricerca è quella seguita per la scarlattina, ottenendo l'epurazione del materiale mediante filtrazione (1). Lo sviluppò del germe si ottiene nel periodo *prodromico* dopo 24–48 ore, nel periodo *eruttivo* dopo 5-6 giorni; non si riesce quasi mai ad ottenere la cultura nel periodo *desquamativo.*

Liquido cefalo-rachidiano. Abbiamo innestato tanto il liquido cefalo-rachidiano direttamente ottenuto per puntura lombare, quanto quello filtrato attraverso candele. La tecnica seguita per quest'ultimo metodo è quella già indicata dal Catterucccia (2) per la scarlattina.

I risultati sono uguali in tutti e due i casi; il secondo metodo è però preferibile al primo perchè evita l'inquinamento.

La ricerca culturale riesce negativa nel periodo *prodromico,* mentre in quello *eruttivo* si ha sviluppo del germe dopo 4–5 giorni dall'innesto; negativa è pure la ricerca nel periodo desquamativo.

Urine. La tecnica è quella esposta dal Ritossa (3) per la scarlattina e seguìta pure pel morbillo. Si ottiene lo sviluppo nel

---

(1) Vitetti. La Pediatria, 18, 1923.
(2) Catterucccia. La Pediatria, 1, 1924.
(3) Ritossa. La Pediatria, 18, 1923.

periodo ***eruttivo*** e nel periodo ***desquamativo*** generalmente dopo 4–5 giorni dall'innesto; raramente si ottiene dopo 48 ore. Nel periodo prodromico e in convalescenza inoltrata non si ottiene sviluppo.

Squame. Ho seguito la tecnica da me (1) adottata per la scarlattina, seguìta poi da Ritossa pel morbillo (2). Lo sviluppo si ottiene dopo circa 5–6 giorni dall'innesto. Anche dalle macchie di Koplik raschiate, diluite in soluzione fisiologica e filtrate si ottiene dopo 4–5 giorni sviluppo.

Secreto congiuntivale. Ci è stato possibile seguire la ricerca in un solo caso, ma con risultato negativo.

Le fasi di sviluppo attraverso cui passa il germe sono uguali in tutti i casi. L'inizio che si può avere dal 2° al 10° giorno dall'innesto, tanto nei terreni di Di Cristina, che in quelli di Tarozzi-Noguchi, è caratterizzato da un lieve intorbidamento al fondo del tubo, che nei giorni successivi si va gradatamente diffondendo per tutta la colonna liquida. Contemporaneamente su le pareti si va depositando un precipitato finemente granuloso e scarso nei terreni di Di Cristina; più abbondante e a granuli più grossi, qualche volta come piccoli fiocchi, nei terreni di Tarozzi-Noguchi.

Staccando con un'ansa o con la punta di una pipetta Pasteur il deposito, questo resta per poco sospeso nella colonna liquida per precipitare al fondo sotto forma finemente fioccosa.

Verso il 10°–12° giorno l'intorbidamento ha raggiunto il massimo dell'intensità; in un periodo successivo si cominciano a chiarificare gli strati superiori della colonna liquida e questo processo continua negli altri giorni, finchè tutto il liquido è chiarificato, e al fondo resta un precipitato più o meno abbondante, secondo la ricchezza dello sviluppo.

Negli innesti di sangue il precipitato al fondo del tubo e su le pareti assume un colore rosso rugginoso ed un aspetto granuloso

Nei terreni di Di Cristina si nota sin dall'inizio dello sviluppo al fondo del tubo una leggera emolisi, che si diffonde attenuata, negli strati superiori.

(1) Sindoni. La Pediatria, 16, 1923.
(2) Ritossa. La Pediatria, 12, 1924.

Nei passaggi ulteriori, quando le culture si sono arricchite, già dopo 24–48 ore si ha un lieve intorbidamento che rapidamente nei giorni successivi invade tutta la colonna liquida, lasciando un ricco precipitato granuloso su le pareti e un deposito al fondo del tubo, che nelle culture di molti giorni forma sul pezzo d'organo come uno straterello bianco-giallastro.

Goccia pendente. Nei preparati a goccia pendente eseguiti all'inizio dello sviluppo si notano dei piccolissimi corpuscoli sferici, talvolta accoppiati, dotati di movimenti piuttosto vivaci sul loro asse, e di un lentissimo movimento di translazione forse impresso dalle correnti del liquido. In un periodo più avanzato di sviluppo i corpuscoli sferici sono più abbondanti, meno scarse sono le forme bigemine.

Preparati colorati. All'inizio dello sviluppo nei preparati ottenuti in seguito a centrifugazione di qualche cc. di liquido culturale prelevato dal fondo del tubo, strisciati e colorati con bleu di metile, si notano in mezzo al detrito amorfo colorato in azzurro pallido dei piccolissimi corpuscoli sferici della grandezza di μ 0,3-0,4, intensamente colorati in bleu, e forme identiche accopiate circondate da un tenue alone chiaro; nelle forme accoppiate qualche volta uno dei due elementi è un pò più grosso dell' altro, come hanno osservato anche Arloing e Dufourt (1). Si osservano inoltre, ma raramente, elementi assai più grossi dell'ordinario, in alcuno dei quali si può notare, osservando con molta attenzione una piccola strozzatura centrale che probabilmente sta ad indicare un processo di scissione.

In un periodo di sviluppo più avanzato si notano, oltre a parecchie forme isolate, un numero maggiore di forme accoppiate sempre con gli stessi caratteri.

In culture vecchie di 30–40 giorni le forme accoppiate sono più numerose che quelle isolate.

Con fuxina diluita si ha una colorazione in rosso intenso, non si riesce a distinguere l'alone, i germi appaiono più grandi delle dimensioni ordinarie.

Con Leishman e Giemsa i germi si colorano intensamente in bleu violaceo, e si distingue bene l'alone.

---

(1) Arloing e Dufourt. Culture du microbe de Caronia. Compt. rend. de la Soc. de Biol. de Lyon, 17 mars 1924.

Col metodo del Gram i germi si dimostrano gram–negativi, sia in preparati ottenuti da culture giovani che in quelli da culture vecchie.

Oltre alla ricerca del germe in preparati ottenuti per centrifugazione del liquido culturale l'abbiamo pure tentata nel pezzo d'organo che entra nella costituzione del terreno, poichè iniziandosi lo sviluppo attorno ad esso e mantenendosi sempre più ricco al fondo del tubo, era presumibile che proprio nel pezzo d'organo dovessero trovarsi più numerosi i germi.

Prelevato questo dal fondo del tubo, se ne strappa con una pinzetta un frammento che viene strisciato sui vetrini e poi fissato e colorato. Si ottengono così dei preparati molto più ricchi di germi tanto isolati che accoppiati.

Questa tecnica però è consigliabile solo nei casi in cui si vogliono ottenere preparati ricchi a scopo dimostrativo, non potendosi più oltre utilizzare la cultura da cui è stato prelevato il pezzo d'organo.

Filtrabilità. La filtrabilità del germe è stata già constatata dal Caronia e da noi confermata, come dimostra la possibilità di ottenere le culture dal filtrato di essudato naso-faringeo, di squame, di urine, di liquido cefalo-rachidiano. Per tutti gli stipiti isolati abbiamo saggiato anche la filtrabilità, sia provocando talvolta l'infezione sperimentale col filtrato di cultura, sia ottenendo culture rigogliose con l'innesto dello stesso filtrato. Le candele da noi adoperate sono le Berkefeld N, W, le Kitasato, le Muenche, le Chamberland L 7, L 9, L 11, e da tutte il germe passa mediante aspirazione con pompa di vetro a caduta d'acqua tipo Bunsen. Innestando nei terreni di Tarozzi-Noguchi il filtrato in cui non si rintraccia alcun elemento microscopico, si ha lo sviluppo con i caratteri descritti nei comuni passaggi, fino a pervenire alle forme visibili al microscopio. Queste osservazioni giustificano l'ipotesi emessa dal Caronia, che cioè l'intenso intorbidamento del terreno culturale in contrasto con la grande scarsezza di germi visibili, debba mettersi in rapporto con abbondante sviluppo di elementi in fase ultramicroscopica.

Ricerche culturali di controllo. Nelle nostre ricerche abbiamo istituito una numerosa serie di prove di controllo.

I terreni di Di Cristina e di Tarozzi-Noguchi subito dopo la preparazione vengono messi in termostato e tenuti per 48 ore a 37°. In seguito vengono lasciati per 4–5 giorni a

temperatura ambiente. Prima di usarli si procede sempre al controllo batteriologico, si è così sicuri di lavorare con terreni di cultura sterili. Data la loro costituzione possono dar luogo a scarsi precipitati albuminoidei che potrebbero far prendere abbagli.

Ad evitare qualsiasi dubbio abbiamo eseguito le seguenti prove:

Innesto di sangue di individui sani o ammalati di altre malattie (difterite, polmonite, eruzione da siero ecc.).

Innesto di filtrato d'essudato faringeo d'individui sani.

Innesto di liquido cefalo-rachidiano di bambini sani.

Innesto di filtrato di squame cutanee di individui sani.

Questi innesti tenuti per lungo tempo in termostato non hanno mai presentato intorbidamento nella colonna liquida, mai precipitato granuloso sulle pareti del tubo. Solo si è avuto dopo molto tempo un lievissimo deposito al disotto del pezzo d'organo, mentre il liquido soprastante è sempre rimasto limpido o diventa appena opalescente.

Nei tubi con innesto di sangue si è solo avuto dopo molti giorni una leggiera emolisi, mai precipitato, e la colonna del liquido è rimasta sempre limpidissima o leggermente opalescente.

Abbiamo pure tenuto in termostato per molto tempo tubi di cultura sterile, senza osservare mai intorbidamento di sorta.

In tutte queste prove la ricerca microscopica è riuscita sempre negativa.

Altre prove di controllo sono rappresentate dalle seguenti osservazioni:

Durante la convalescenza non si ha sviluppo del germe, nè dal sangue, nè dal muco naso-faringeo, nè dal liquido cefalo-rachidiano.

Facendo trapianti di culture lasciate in laboratorio per oltre tre mesi, non si ha più sviluppo.

Filtrando culture già precedentemente inattivate per un'ora a 60° e innestando il filtrato non si ha sviluppo di germi.

Ricerche microscopiche

Le ricerche microscopiche, una volta acquistata la conoscenza del germe in cultura, sono state sistematicamente praticate nel sangue, nel midollo osseo, nel secreto naso-faringeo, nelle macchie di K o p l i k, nelle urine, nelle squame, nel liquido cefalo-

rachidiano ed in un caso di neonato morto da madre morbillosa nella milza, nel fegato e nel rene.

Nel sangue. Per quanto a lungo e particolarmente osservato il sangue in numerosi preparati, non siamo mai riusciti a mettere in evidenza alcuna forma accoppiata; s'incontra a volta qualche forma isolata, ma non è possibile dare alcun giudizio, data la presenza più o meno abbondante di granuli cromatici nei preparati di sangue.

Nel midollo osseo. La ricerca del germe nel midollo osseo invece è costantemente positiva, se fatta nel periodo esantematico. S'incontrano rare forme costituite da due elementi, perfettamente rotondi, ravvicinati in modo da formare come un piccolo diplococco intorno a cui si distingue nettamente un tenue alone chiaro. Sono sempre extracellulari. Anche nei preparati di midollo osseo nessun giudizio si può dare sulle forme isolate che si riscontrano più numerose.

La ricerca del germe praticata nel periodo prodromico ha dato quasi sempre risultato negativo, e così nel periodo desquamativo.

Nel secreto naso-faringeo e nelle macchie di Koplik. La ricerca del germe nell'essudato naso-faringeo ci è stata relativamente facilitata dalla conoscenza del germe nei preparati di cultura e di midollo osseo. Nel periodo prodromico le forme accoppiate sono numerose e si riescono a differenziare bene dagli altri germi per le loro proprietà morfologiche. Nel periodo iniziale sono più scarse. Scompaiono o sono scarsissime nel periodo di convalescenza.

Nelle macchie di Koplik asportate e strisciate in vetrini si riscontrano gli stessi elementi a prevalenza sugli altri germi.

Nelle urine. Seguendo la tecnica di Ritossa si ottengono dei preparati molto nitidi, in cui si distinguono bene forme accoppiate e forme isolate. Nel periodo prodromico la ricerca del germe nell'urina dà risultato negativo; è positiva nel periodo esantematico e, non costantemente, in quello desquamativo.

Nel liquido cefalo-rachidiano. La ricerca riesce piuttosto difficile. Prelevato sterilmente il liquido, viene centrifugato a lungo e dal sedimento si allestiscono dei preparati colorati col Leishman o col bleu di Löffler o con il bleu di metilene. Dopo una lunga, paziente ricerca si mettono in evidenza i germi costante-

mente nel periodo esantematico, raramente in quello desquamativo, mai nel prodromico.

Nelle squame. Si è seguita la tecnica già proposta da me nella scarlattina e seguita da Ritossa nel morbillo. Dalle squame macerate in soluzione fisiologica si ottengono dei preparati con parecchi germi tanto in forme accoppiate che in forme uniche.

Nel fegato, nella milza, nel rene. Ci è stata possibile la ricerca del germe del morbillo, oltre che nel midollo osseo, negli altri tessuti in un feto di 8 mesi, nato morto da madre morbillosa. In questo caso, illustrato già dal Ritossa (1), abbiamo potuto mettere in evidenza numerose forme accoppiate nella milza, nel fegato, nel rene. Presentano sempre le stesse caratteristiche, non si riscontrano mai intracellulari. Colorati col Leishman e col Giemsa prendono sempre i colori basici.

La stessa ricerca, con risultati positivi, abbiamo praticato nei conigli sperimentalmente infetti: nel fegato per puntura in vita, nella milza e nel rene negli animali venuti a morte.

Ricerche microscopiche di controllo. Negli strisci di midollo osseo di bambini sani e di organi di conigli sani non si riescono mai a mettere in evidenza germi. Ugualmente negativa riesce la ricerca nel liquido cefalo-rachidiano, nell'essudato naso-faringeo, nelle urine di bambini sani o affetti da altre forme morbose.

Preparati eseguiti da tubi culturali innestati con materiale non morbilloso (sangue, l. c. r., filtrato d'urina e di muco naso-faringeo di individui sani) o da tubi di cultura sterili tenuti per molto tempo in termostato non hanno mai fatto rilevare presenza di germi.

Ugualmente negativi sono stati i preparati eseguiti con pezzo d'organo prelevato da tubi di cultura sterili.

Conclusioni

Il microrganismo del morbillo si può isolare dal sangue, dal midollo osseo, dall'essudato naso-faringeo, dal liquido cefalo-rachidiano, dalle urine, dalle squame di ammalati di morbillo.

È coltivabile in serie infinita negli speciali terreni catalizzatori di Di Cristina e Tarozzi-Noguchi ed in anaerobiosi; ma lo sviluppo delle forme visibili è assai scarso.

(1) Ritossa. La Pediatria, 9, 1924.

È di forma rotondeggiante, piccolissimo (da 0,3 a 0,4 μ), spesso accoppiato a mo' di diplococco e circondato da un lieve alone chiaro.

Si colora bene con i comuni colori di anilina, specie con il bleu di Löffler; con i colori composti tipo Giemsa, Leishman ecc. prende il bleu; è gram-negativo.

Si moltiplica con tutta probabilità per scissione.

Attraversa una fase ultramicroscopica, perchè è filtrabile attraverso le candele più strette.

Lo si riscontra microscopicamente nell'essudato naso-faringeo, nelle macchie di Koplik, nel midollo osseo, nel liquido cefalo-rachidiano, nelle urine, nelle squame di morbillosi; e inoltre nella milza, nel fegato, nel rene di animali sperimentalmente infetti.